

## 异形藻属一新种——扁球异形藻及其生活史的研究\*

俞敏娟

魏印心

理查德·斯塔

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072) (美国德州大学植物系, 奥斯汀)

### A NEW SPECIES OF *DYSMORPHOCOCCUS* (PHACOTACEAE, VOLVOCALES) AND ITS LIFE CYCLE

YU MIN-JUAN WEI YIN-XIN

RICHARD STARR

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

(Dept. of Botany, Univ. of Texas, Austin)

**Abstract** This paper deals with the morphology and life cycle of a new species of *Dysmorphococcus oblatus* Yu et Wei (Phacotaceae, Volvocales) from Africa. The alga seems to be morphologically rather distinct from the other members (lorica, protoplast and number of pyrenoid). Moreover, a comparison is made of overall morphological and reproductive characteristics of the present taxon with the other 8 known species of this genus. The cultural experiment of the life cycle of this alga reveals certain attributes unrecorded for early described species of this genus. The alga is homothallic, and heterogametic and sexual reproduction produces 32—64 male gametes and 2 female gametes.

**Key words** *Dysmorphococcus oblatus*; Sexual reproduction; Homothallism; Heterogamete

**摘要** 本文报道了团藻目、壳衣藻科、异形藻属一新种——扁球异形藻。此种从非洲的土壤标本中分离获得。营养细胞(囊壳、原生质体)与已知的其它 8 个种有明显的不同。生活史的培养观察发现有性生殖为异配,这是此属未曾被描述的一个特征。

**关键词** 扁球异形藻; 有性生殖; 同宗配合; 异形配子

#### 扁球异形藻 新种

*Dysmorphococcus oblatus* Yu et Wei, sp. nov.

*Dysmorphococcus oblatus* Yu et Wei affinis *D. africo* a quo imprimis differ forma protoplastorum in facie frontali visa, forma et Positione stigmati, Propagatione Sexuali anisogamica heteothallo. Lorica compresso-globosa, in facie frontali visa rotundata, 18—23 $\mu$ m diam., a latere et vertice visa elliptica, 12.5—18 $\mu$ m crassis, in juventate

\* 模式标本保存在中国科学院水生生物所(HBI)藻种库。

本工作在美国德州大学植物系,斯塔教授实验室完成。

本文新种的拉丁文承水生所施之新同志书写,图由戴尚真同志复墨,特此致谢。

1989.09.28 收稿。

incolorata, deinde brunnea, tenuiter punctatis; protoplastus in facie frontali visus rotundatus vel ovatus, a latere visus ellipticus vel ovatus,  $15-18 \times 15-17 \mu\text{m}$ , a vertice visus ellipticus,  $10.5-14.5 \mu\text{m}$  crassis, antice loricae approximatus; flagelli quam loricae paulo longiores, vacuolis contractilibus duabus in polo antico ad basin flagellorum praediti; chromatophorum cyathiforme, pyrenoides 2—4; stigma ellipsoideum ad  $1/3$  protoplasti antice locatum; nucleus ad aream centralem cellulae plus minusve situs; zoosporis 4—8, globosis,  $4-6 \mu\text{m}$  diam., biflagellatis; reproductio sexualis anisogamica est, gametis masculis biflagellatis, fusiformibus  $4-5 \mu\text{m}$  longis,  $1-2 \mu\text{m}$  latis; gametis femineis biflagellatis, ovoideis,  $11-16 \mu\text{m}$  longis,  $7.5-10 \mu\text{m}$  latis; zygota globosa, brunnea, verrucata,  $19-23 \mu\text{m}$  diam.

Hab. in solo in Lemon Core, Zimbabwe, Africa, 1966, R. C. Starr, HB 338 (Typus, HBI).

囊壳扁球形, 正面观圆形, 直径  $18-23 \mu\text{m}$ , 侧面观和顶面观椭圆形, 厚  $12.5-18 \mu\text{m}$ ; 幼时无色, 长成后呈褐色, 壳面具精致的穿孔纹。原生质体正面观圆形或卵形, 侧面观椭圆形或卵形, 顶面观椭圆形, 宽  $15-17 \mu\text{m}$ , 长  $15-18 \mu\text{m}$ , 厚  $10.5-14.5 \mu\text{m}$ , 前端靠近囊壳。鞭毛略长于体长, 其基部具两个收缩泡。色素体杯状, 蛋白核 2—4 个。眼点椭圆形, 位于原生质体前端三分之一处。细胞核一个, 位于细胞中部偏前端。无性生殖: 球形动孢子, 具两条鞭毛, 直径  $4-6 \mu\text{m}$ 。有性生殖: 异配生殖, 梭形雄配子, 宽  $1 \mu\text{m}$ , 长  $4-5 \mu\text{m}$ , 卵圆形雌配子宽  $7.5-10 \mu\text{m}$ , 长  $11-16 \mu\text{m}$ 。合子球形, 褐色, 具瘤状突起, 直径  $19-23 \mu\text{m}$ 。(图 1: 1—6)

此种与 *D. africa* 近似, 与该种不同在于原生质体正面观的形状, 眼点的形状和位置, 有性生殖为异配等。

非洲: 津巴布韦勒蒙科尔 (Lemon Core). 1966 年, R. C. Starr.

自 1916 年 Takeda 建立异形藻属 *Dysmorphococcus* 及其新种 *D. variabilis* 以来, 全世界共报道了八个种。其中 *D. variabilis* Takeda (1916), *D. punctatus* Fott (1957), *D. reniformis* Wei et Hu (1984) 仅进行了一般分类形态研究; 1953 年 Bold 和 Starr 发表了此属的一个新种 *D. globosum*, 文中较详细的描述了此种藻类的形态、核相变化, 同时也观察到配子群集现象, 但未见配子结合; 印度 Shyam (1981) 发表了此属的另一个新种 *D. sarmaii* 并对此种的形态学、细胞学及其生活史进行了研究, 认为其有性生殖为同型配子结合, Dawson 和 Harris (1987) 对 *D. globosum* 的数个品系也进行了有性生殖的观察。

此属藻类种类不多, 除 *D. variabilis* 苏联、英国、捷克斯洛伐克、中国、印度、美国均报道过外, 其他几个种仅在 1—2 个产地发现。本文对在非洲津巴布韦采得的种进行了分离培养, 并对其生活史进行了研究。

## 材 料 和 方 法

1. 分离: 从德州大学植物系 R. C. Starr 教授保存近 20 年的采自非洲津巴布韦勒蒙科尔 (Lemon Core) 地区的土样标本中分离出近 10 个藻株。

将土壤磨碎, 平铺于培养皿底部, 用玻璃蒸馏水先将土壤润湿, 随后加水至刚刚高出土壤表面。将培养皿置于  $3000-4000 \text{ lx}$  光下连续照射 48 小时后, 可观察到有此类藻类出现。用毛细管将此种藻种吸出放于凹玻璃片上, 反复用无菌土壤水清洗, 直至每孔中只

有一个干净的藻株为止。随后将此藻转入一片灭菌的凹片上加入无菌土壤水,将此片置于有少量水的培养皿内以保持其湿度,随后放于光强 3000—4000lx 下培养 3—4 天后转

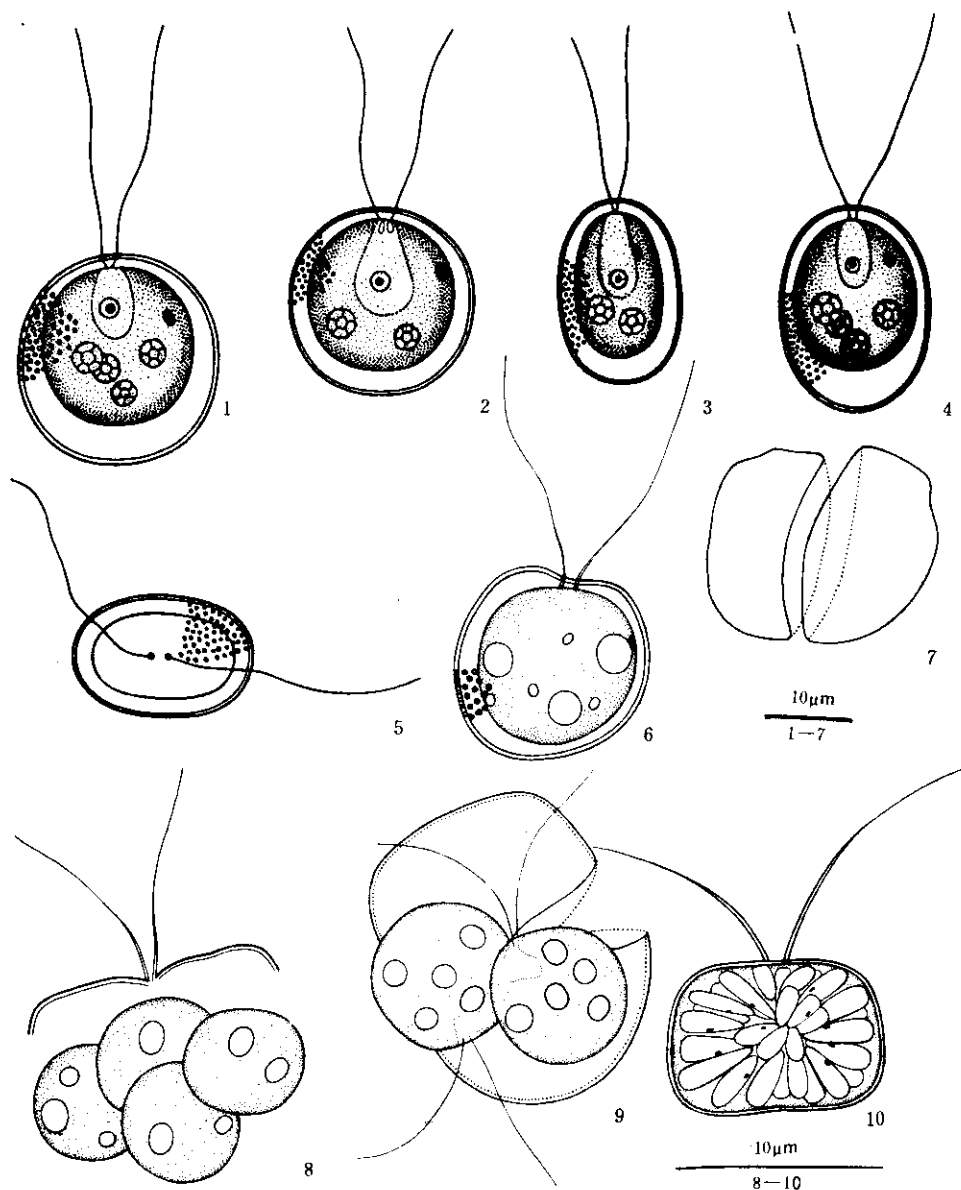
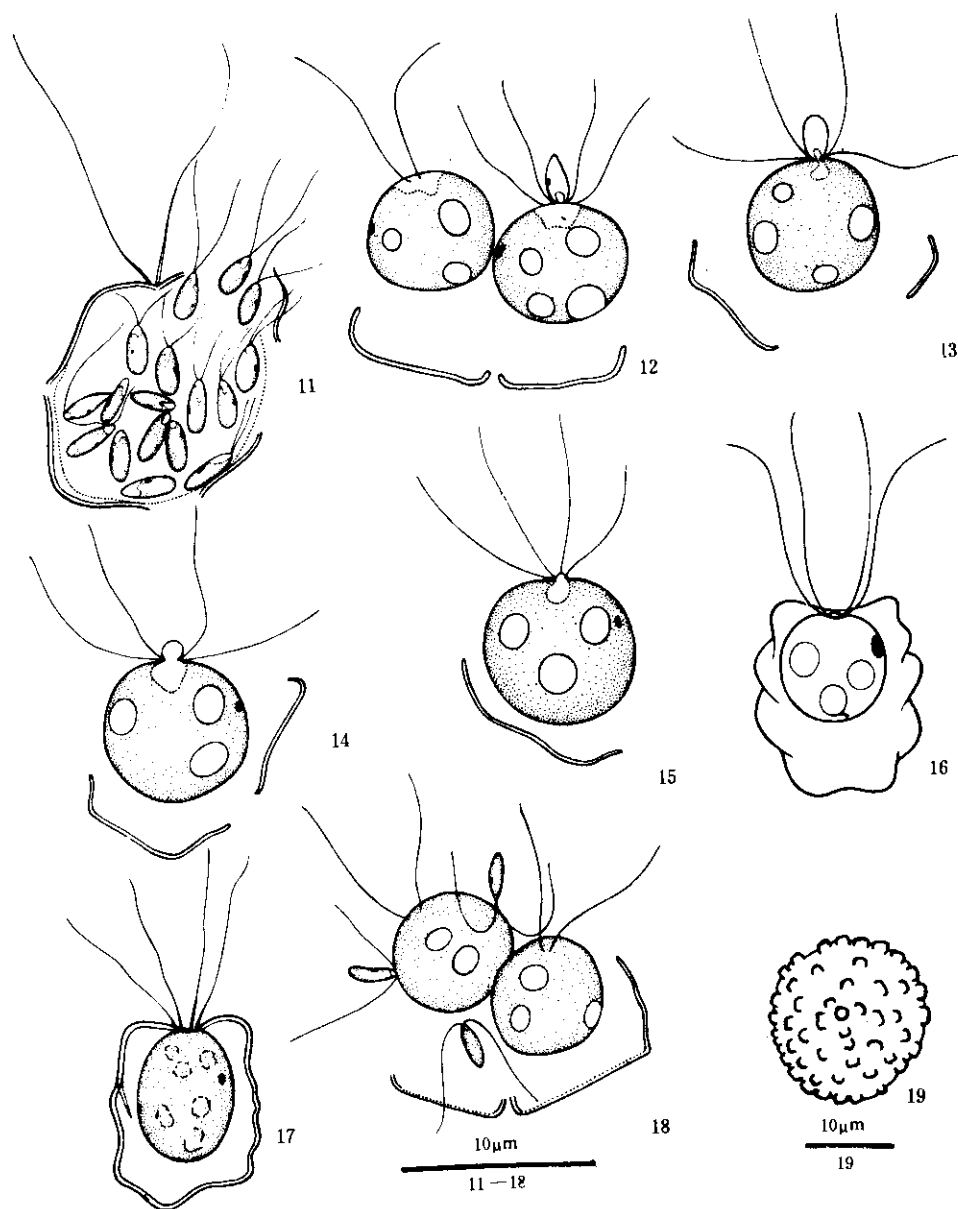


图1 扁球异形藻 1—2.营养细胞的正面观;3—4.营养细胞的侧面观;5.营养细胞的顶面观;6.营养细胞的正面观;7.细胞纵裂;8.配子结合;9.形成雌配子;10.形成雌配子。11—15.18.配子结合;16.平胞藻属;17.四条鞭毛的结合子;19.成熟的给合子。

Fig.1 *Dymorphococcus oblatum* 1—2. Front view of vegetative cell; 3—4. Lateral view of vegetative cell; 5. Top view of vegetative cell; 6. Front view of vegetative cell; 7. Cell dividing longitudinally into two pieces; 8. Formation of zoospore; 9. Formation of female gametes; 10. Formation of zygote with 4 flagellates of *D. oblatum*; 11—15. 18. Zygote with 4 flagellates of *D. oblatum*; 19. Mature zygote.

入试管或锥形瓶中培养。

2. 培养基: (1) 土壤浸出液培养基: 取少许花园土放于试管底部, 加蒸馏水至试管



观。储藏颗粒增多; 7. 囊壳纵裂为二; 8. 动孢子形成; 9. 雌性配子的形成; 10. 雄性配子的形成; 11. 雄性配子的释放;

5. Apical view of vegetative cell; 6. Front view of vegetative cell, in which stored granules increasing; 7. Lorica male gametes. 11. Liberation of male gametes; 12—15, 18. Fusion of the male and female gametes; 16. Pedinopere;

表1 异形藻属9个种

Table 1 A comparison of taxonomical characteristics

种 类 species 特征 characteristics		<i>D. africana</i>	<i>D. coccifer</i>	<i>D. globosus</i>	<i>D. oblatius</i>
藻壳 lorica	形 状 shape	球形—长卵形 globose to long-ovoid	广卵形, 侧扁 broadly ovoid, compressed	球形 globose	扁球形 oblate
	纹饰 sculpture	未描述 not described	小孔 porate	镶嵌穿孔纹 mosaic-punctate	穿孔纹 punctate
	大小 size	14—24 × 13—20 μm	达 22 μm up to 22 μm	达 28 μm up to 28 μm	23 × 18 μm
	裂开情况 lorica dehiscence	未知 not known	纵裂为二 longitudinal two valves	后部, 不规则裂开 posterior, irregularly	纵裂为二 longitudinally in to two valves
	前端 anterior	具突起 with protuberance	具二个不明显突起 with two indistinct protuberances	具半球形突起 with a hemispherical protuberance	无 without protuberance
原生质体 protoplast	形状 shape	梨形—球形 pyriform-globose	扁球形 oblate	梭形, 两头夹 fusiform, attenuate at both ends	扁球形 oblate
	蛋白核 pyrenoids	2—4 周生 2—4, peripheral	多个, 周生 numerous, peripheral	多个, 周生 numerous, peripheral	2—4 个, 周生 2—4, peripheral
	色素体 chloroplast	坛形(杯状) Urn(cup)-shaped	杯状 cup-shaped	杯状 cup-shaped	杯状 cup-shaped
	收缩泡 contractile vacuotes	未描述 not described	多个, 周生 numerous, peripheral	多个, 周生 numerous, peripheral	2 个, 位于顶部 two, apical
	眼点 stigma	半球形, 位于细胞中 hemi spherical, equatorial	半球形 hemi spherical	长线性, 位于中部 linear, equatorial	椭圆形, 前端 1/3 处 ellipsoid, located at about anterior 1/3 of protoplast
	细胞壁 cell wall	未描述 not described	有 present	无 absent	无 absent
生殖 reproduction	动孢子 zoospores	具有 present	未知 not known	1—16 个 1—16 per mother cell	4—8 个 4—8 per mother cell
	静孢子 aplanospore	未知 not known	形成一个静孢子 aplanospore (akinete) per mother cell	4 个 4 per mother 1—16 cell	未知 not known
	有性生殖 sexual reproduction	同宗配合, 同形配子 homothallism, isogametic	未知 not known	兼性配子 facultatively gametic?	同宗配合, 异形配子 homothallism heterogametic
	萌发 germination	未知 not known	静孢子萌发为 4 个个体 4 produced from germination of an aplanospore	静孢子萌发, 4 个个体 4 zoospores produced from germination of an aplanospore	合子萌发为 1 个个体 1 produced from germination of a zygote

## 分类特征比较

of 9 species in the genus *Dysmorphococcus*

<i>D. peterfii</i>	<i>D. punctatus</i>	<i>D. reniformis</i>	<i>D. sarmaii</i>	<i>D. variabilis</i>
球形 globose	四角形-球形, 侧扁 quadrangular-globose, lateral-compressed	肾形, 卵形 nephroid, ovoid	多形态, 宽卵形-略五角形 polymorphic, broadly ovoid-pentagonal	广椭圆形-广卵形, 侧扁 ovoid-ellipsoid, obovoid, slightly compressed
未描述 not described	穿孔纹 punctate	狭长网纹 rectangular-reticulate	小孔 porate	六角形小孔 sexangular-porate
15 × 15 μm	20 × 1.85 μm	8—18 × 16—25 μm	16.1—23 × 13.8—18.4 μm	14—19 13—17 μm
未知 not known	未知 not known	纵裂 longitudinally into two valves	不规则纵裂 irregularly longitudinally into two valves	纵裂为二 longitudinally into two valves
具突起 with protuberance	顶端凹入, 双叶 emarginate, bilobed	广圆 broadly rounded	顶部凹入, 双叶 emarginate, bilobed	具小喙状突起 with a small rostrate protuberance
未描述 not described	扁球形 oblate	肾形, 卵形 nephroid, ovoid	扁球形 oblate	梨形, 具乳突 pyriform, papillate
一个, 轴生 single, axile	2—3 个, 侧生 two or three, lateral	单个, 基部 single, basal	没有 absent	单个, 基部 single, basal
未描述 not described	杯状 cup-shaped	杯状 cup-shaped	大, 球形 massive, globose	杯状 cup-shaped
二个, 顶部 two, apical	两个, 顶部 two, apical	两个, 顶部 two, apical	两个, 顶部 two, apical	2 个, 位于顶部 two, apical
未描述 not described	线状, 侧生 linear, lateral	未知 not known	盘状细胞中部略偏前端 discoidal, equatorial to nearly anterior	盘状, 细胞中部或偏前端 discoidal, equatorial to nearly anterior
未描述 not described	无 absent	无 absent	无 absent	无 absent
未描述 not described	未知 not known	每个母细胞 2 个 2 per mother cell	8—16 个 8—16 per mother cell	每个母细胞 2 个 2 per mother cell
未知 not known	未知 not known	未知 not known	未知 not known	未知 not known
未知 not known	未知 not known	未知 not known	同配, 6—32(—64)配子 isogametic, 16—32(—64) gametes per mother cell	未知 not known
未知 not known	未知 not known	未知 not known	未描述 not described	未知 not known

2/3 处,经两次蒸灭后即可用。

(2) Hepe's Volvox 培养基: 978ml 水加入如下成分。

ml	原 液	克 / 100ml
1	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	11.8
1	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.0
1	磷酸甘油酸钠	5.0
1	KCl	5.0
10	Hepe	2.38
1	生物素	$2.5 \times 10^{-6}$
1	$\text{B}_{12}$	$15 \times 10^{-6}$
6	* PTV 液	

\* PTV 液: 1000ml 蒸馏水加入 0.750g 的  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , 溶解后加入  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.097g)、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0.041g)、 $\text{ZnCl}_2$  (0.005g)、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.002g)、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4$  (0.004g)。

培养光暗周期为 12:12, 温度  $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , 光照强度为 3000—4000lx。

3. 测定: 藻类增殖以光密度、细胞计数计算, 生活史的观察采用悬滴培养法, 定时采样在显微镜下观察。

## 结 果 与 讨 论

### 1. 作者研究的藻类为一新种——扁球异形藻

此种与 *D. variabilis* Takeda 近似, 但在囊壳及原生质体的形状, 蛋白核的数目上均有差异。此种与其他八个种的分类特征比较见表 1。

2. *D. oblatius* 在土壤水中增倍时间为 18—20 小时, 一般在停止光照 6—8 小时后观察到细胞的分裂; 而在 Hepe's Volvox 培养基中增倍时间为 14—16 小时, 在停止光照后 2—4 小时观察到细胞分裂。说明后一种培养基较前者更适于此种藻类的生长。

### 3. 繁殖:

(1) 营养繁殖: 营养细胞纵裂为二, 产生两个子细胞, 刚形成时, 子细胞囊壳表面穿孔纹不明显, 在较老的个体中, 其穿孔纹清晰可见。

(2) 无性生殖: *D. oblatius* 在 Hepe's Volvox 培养基中生长良好, 可经常观察到细胞的无性繁殖。首先是原生质体增大, 以后分裂为 4—8 个, 直径为 4—6 $\mu\text{m}$  的圆形动孢子 (图 1: 8), 此时母细胞的鞭毛仍留在囊壳外, 尚能自由游动, 待动孢子成熟后, 囊壳中间纵裂为二 (图 1: 7), 动孢子逸出, 围绕着母细胞的囊壳游动 20—30 分钟后离去。动孢子的鞭毛最初只是在顶端摆动, 以后整条鞭毛煽动。动孢子刚逸出时是裸露的, 直到游动 20—30 分钟后才形成透明的胶状囊壳。

(3) 有性生殖: 将此藻类培养于土壤液中可观察到有性生殖, 在一无性繁殖系中可以同时形成雄性和雌性配子。一般情况下, 可产生 32—64 个雄配子。首先是核分裂, 以后原生质分割成 32—64 块, 最后形成带鞭毛的配子 (图 1: 10), 此种配子为淡绿色, 梭形, 宽 1—2 $\mu\text{m}$ , 长 4—5 $\mu\text{m}$ , 具两条等长鞭毛, 鞭毛长度约为体长的 1.5 倍。从原生质分割到配子释放需经 8—10 小时, 雄配子释放多半在光照后 1—2 小时发生, 它们释放后仍围绕着母细胞壁游动约 20—30 分钟后离去。雄配子常聚集成群, 尾随于雌配子之后, 如同慧星的尾巴。经过 10 小时游动后如无机与雌配子结合, 就会停止游动, 失去鞭毛, 渐变为

圆形。雌配子约为雄配子的 5—6 倍, 一般为 10—16 $\mu\text{m}$ , 呈卵圆形, 其形成过程同于动孢子, 仅其数目较少(图 1: 9)。

如果雄性配子和雌配子同步形成时就可观察到结合现象。一般雄配子释放略早于雌配子, 雄配子与雌配子相遇时间需在雌配子的囊壳形成之前。

结合前可观察到雄配子群集游向雌配子, 大约追逐 20 分钟后, 其中一个雄配子靠近雌配子的顶端, 雄配子的原生质体慢慢流入雌配子体内, 最后只有鞭毛留在外面形成四条鞭毛的结合子(图 1: 11—15、18), 整个结合过程仅需 2—5 分钟。结合子游动 1—2 小时后形成囊壳, 停止游动而固着于基质上。结合子为球形, 褐色, 合子壁具有瘤状突起的花纹(图 1: 17、19)。

将成熟的结合子冰冻保存于 $-4^{\circ}\text{C}$ 下, 1—3 个月后取出, 用蒸馏水离心清洗数次后, 再放于蒸馏水中 48 小时后, 可观察到结合子的萌发。萌发合子壁纵裂为两片, 原生质体逸出, 很快长出鞭毛, 形成一个新个体。

关于此属有性生殖的现象, 1953 年 Bold 及 starr 报道了动孢子有群聚现象, 他们认为兼性配子, 但未见其结合。以后印度的 shyam 在 1981 年报道了一个新种 *D. sarmaii*, 他认为这个新种的有性生殖是同型配子结合形成四条鞭毛的结合子。而笔者观察到的 *D. oblatius* 却是异型配子结合。较为有兴趣的是 *D. oblatius* 在形成结合子后, 有时其囊壳会形成方形, 很类似 Pocock (1962) 报道的 *Pedinopera*, Starr 教授认为\* 它很可能就是 *Dysmorphococcus* 属的带四条鞭毛的结合子, 从图 1: 16 中可以看出它们确实很相近。作者曾在武昌东湖连续几年(1983—1985)进行了观察, 发现 *D. sphericus* sp. nov. (未发表新种)在春秋两季均能大量增殖, 但是尚未观察到具四条鞭毛的结合子。故此问题尚有待进一步研究。此属有性生殖是否有异配和同配两种类型, 尚需收集更多的种类进行观察, 有可能是种类不同而类型有差异, 也有可能是雄配子的群集现象被误认为是结合。

## 参 考 文 献

- [1] 魏印心, 1984: 西藏新绿藻。植物分类学报, 22(4): 321—336.
- [2] Bold, H. C. and Starr, R. C. 1953: A member of the Phacotaceae Bull. Torrey Bot. Club, 80: 178—186.
- [3] Dawson, J. T. and Harris, D. O. 1979: A new species of *Dysmorphococcus* from South Africa. Arch. Protistenk, 122: 218—221.
- [4] ———, 1983: Studies on the growth requirements of the Genus *Dysmorphococcus* (Volvocales). Arch. Protistenk, 127: 47—58.
- [5] ———, 1987: Notes on the life history of the Planktonic alga *Dysmorphococcus globosum* (Volvocales). J. Plankton Research, 9(2): 291—295.
- [6] Fott, B. 1957: Taxonomie demidroskopischen Flora einheimischer Gewasser. Preslia, 29: 278—319.
- [7] Korschikoff, A. A. 1925: Beitrage zur Morphologie und Systematik der Volvocales I. Archiv Russ. Protistol 4: 153—193.
- [8] Péterfi, L. St. 1973: Studii asupra taxonomiei si ecologiei volvocalelor din Romania III. Sudia Universitatis Babes Bolyai, series Biologia, anul XVII, fasciculus, 2: 3—12.
- [9] Pocock, M. A. 1962: Algae from Deklip Soil Cultures. Archiv Fur Microbiol 42: 56—63.
- [10] Shyam, R. 1981: Studies on North Indian Volvocales VI. On the life cycle and cytology of a new member of phacotaceae, *Dysmorphococcus sarmaii* sp. nov. Can. J. Bot. 59: 726—734.
- [11] Takeda, H. 1916: *Dysmorphococcus variabilis* gen. et sp. nov. Ann. Bot. (London), 36: 151—156.

\* 未发表的资料, 系个人交往中提及。